

## H17/A13 細胞バイオトロニクスに関する研究(1節 共同プロジェクト研究の理念と概要, 第4章 共同プロジェクト研究)

雑誌名	東北大学電気通信研究所研究活動報告
巻	13
ページ	152-153
発行年	2007-08
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/40645">http://hdl.handle.net/10097/40645</a>

## 細胞バイオトロニクスに関する研究

### [1] 組織

代表者：篠原康雄

(徳島大学ゲノム機能研究センター)

責任者：庭野道夫

(東北大学電気通信研究所)

分担者：

片岡正俊 (徳島大学ゲノム機能研究センター)

長宗秀明 (徳島大学・工学部)

馬場嘉信 (名古屋大学大学院工学研究科)

宮崎 均 (筑波大学・生命環境科学研究科)

磯田博子 (筑波大学・生命環境科学研究科)

溝口 剛 (筑波大学・生命環境科学研究科)

木村康男 (東北大学電気通信研究所)

研究費：校費 316,000 千円、旅費 434,000 円

### [2] 研究経過

バイオエレクトロニクスは 21 世紀の重要な科学技術分野の一つとみなされているが、その技術革新のためには、20 世紀に高度に発達した半導体集積回路技術と、その多様な機能が次々と解明されつつある生体化学反応系とのインテリジェントな融合を図る必要がある。この融合が実現すれば、生体情報を物理信号に変換し、また、逆に物理信号を生体系にフィードバックする高度なバイオ・インタフェースシステムが構築でき、現在急成長しているバイオエレクトロニクスの更なる発展に貢献する。

本研究では、多重内部反射型赤外分光法を利用し、主に細胞の動的過程を、リアルタイムかつ網羅的に解析できる高度な生体計測手法の開発を目的としてスタートした。研究課題は、①膜タンパクと生体高分子(タンパク質や DNA) 相互作用をリアルタイムで検出、②細胞レベルの基本的変化(細胞周期、細胞分化、アポトーシス等)を非破壊かつリアルタイムで検出、③細胞機能に関与する低分子化合物(ATP や GTP) の濃度変化をリアルタイムで検出することとし、そのための具体的な技術開発項目としては、①検出感度を従来技

術に比べ少なくとも 2 桁の増大、②多重計測(多サンプル計測)技術の確立、③温度や細胞培養環境などの測定環境制御法の確立、④最適な応用法の探索と実証であり、これら一連の技術を統合・集積化することにより、将来の高感度細胞チップの実現の基礎を築くことを目標とした。

当初の研究内容及び計画は以下の通りである。

赤外計測・微細加工・表面処理で十分な経験を有する東北大研究グループ、生体高分子の機能解析で先端的研究を行っている徳島大学と筑波大学研究グループが有機的に連携して、以下の研究項目について共同研究を遂行する。

(1) 細胞計測の高感度化(担当：庭野、木村、片岡、長宗、宮崎、磯田) (2) 測定環境の制御技術の確立(担当：庭野、木村) (3) 多サンプル測定(多重測定)技術の確立(担当：庭野、木村) (4) 細胞の Si 基板表面上局所吸着技術の確立(担当：篠原、片岡、宮崎、磯田、木村) (5) 生体物質の赤外吸収スペクトルのデータベース構築(担当：木村、片岡、宮崎、磯田) (6) 生体物質と細胞・膜タンパクとの相互作用の解明(担当：全員) (7) 細胞変化のリアルタイム観察(担当：全員)

本年度は、特に、(2)と(7)に関して集中的に研究を行った。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

##### (1) 細胞培養環境制御システムの構築

細胞培養は、通常、専用の細胞培養器の中で行われる。一般的な細胞培養の条件は、37℃、高湿度、CO<sub>2</sub> 5 %を含む雰囲気である。37℃ の温度は哺乳類の一般的な体温であり、高湿度は培地(培養液)の蒸発防止のためである。培地には pH を一定に保持するために炭酸水素ナトリウム(NaHCO<sub>3</sub>) を添加しているが、時間とともに CO<sub>2</sub> が脱気してしまうため、CO<sub>2</sub> 5 %の条件で培養を行う必要がある。これらの条件から外れると、培

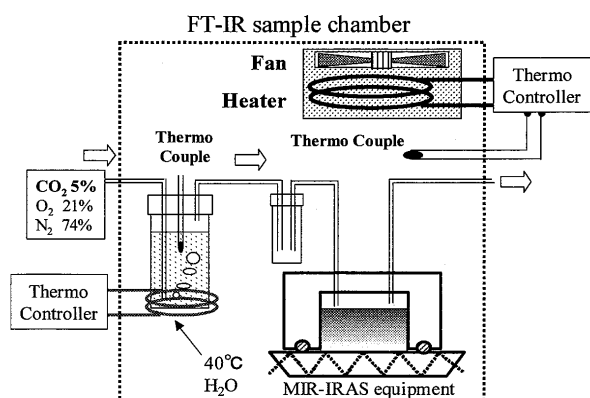


図1 赤外分光用細胞培養環境制御システム。

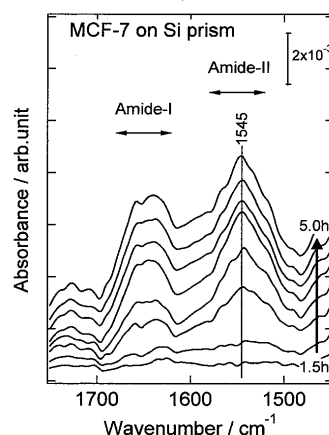


図2 多重内部反射赤外分光用溶液セル内細胞の赤外吸収スペクトルの時間変化。

養細胞は生存できない。また、そもそも細胞の遺伝子発現は周囲の温度・pH等の条件に非常に敏感であり、実験環境は厳密に制御されている必要がある。そこで、多重内部反射型赤外分光法を利用し、主に細胞の動的過程をリアルタイムかつ網羅的に解析できる高度な生体計測装置を実現するために、細胞培養の条件に合わせて計測装置の環境制御するシステムを構築した。図1に構築した制御システム概念図を示す。

まず、赤外分光装置にヒータと温度調節機を取り付け、試料室全体を37°Cに加熱する。赤外分光装置の仕様から、試料室にはCO<sub>2</sub>ガス(および酸素)をチューブを介して供給する。その際、雰囲気ガスを一度洗浄びんに通すことによって湿度を与える。雰囲気ガスに十分な湿度を与えるため洗浄びんにも温度制御装置を取り付け、洗浄びんの温度を試料室内よりも高温に保つ構造になっている。

## (2) 環境制御システムの動作試験結果

前述の環境制御システムの動作を確認した。試料室内の温度は  $37 \pm 0.3^\circ\text{C}$  であった。一般的な細胞培養器の温度管理は  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  であるので、温度管理は条件を満たしていることが確認できた。

次に、実際に培養細胞を用いて、溶液セル内が細胞の生存できる条件に保たれているかを確認した。溶液セル内にMCF-7細胞(付着細胞)を導入して、細胞培養器で24時間培養した後、多重内部反射赤外分光用溶液セルを赤外分光装置の試料室へ設置し、環境制御装置を動作させながら赤外吸収スペクトルの変化を5時間測定した。

図2に、赤外吸収スペクトルの時間変化を示した。放置時間の増加と、主に  $1640$ ,  $1545\text{ cm}^{-1}$  において吸収強度の増加が見られた。これら2つの吸

収帯は、タンパク質の吸収帯であり、 $1640\text{ cm}^{-1}$  に位置する吸収はAmide-I、 $1545\text{ cm}^{-1}$  に位置する吸収はAmide-IIと呼ばれる。一般的に、Amide-I吸収帯はC=O伸縮振動とNH<sub>2</sub>変角振動に由来し、Amide-II吸収帯はC-N伸縮振動によるとされている。顕微鏡観察からMCF-7細胞は測定中に成長したことを確認しており、図2に示された吸収スペクトルの変化は、細胞の成長に付随してSiプリズム表面近傍におけるタンパク質の量が増大したことによると考えられる。

以上の測定結果は、環境制御装置によって試料室内(溶液セル内)が、細胞の成長に必要な環境に保たれていたことを示している。

## (3-2) 波及効果と発展性など

本研究でその実現を目指す、細胞の機能や、細胞に生じる変化を非破壊かつリアルタイムで捉える技術は、個々の分子を標的とした解析とは異なり、細胞の全体像を把握するものとして今までにない斬新なものである。また、本研究の手法は食品の安全性や環境毒性評価への応用も期待できる。本研究の成果は、細胞レベル、分子レベルでの迅速、簡便、安価な解析手法開発に間違いなく貢献すると考える。

## [4] 成果資料

第19回日本動物細胞工学会2006年度国際会議(The 19th Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAAC2006)) 会議録に掲載した論文を添付する。